

(54) SUSTAINED RELEASE COMPOSITION FOR INOCULATION

- (11) 61-277612 (A) (43) 8.12.1986 (19) JP
 (21) Appl. No. 60-118463 (22) 31.5.1985
 (71) KIYOSHI MORIKAWA (72) KIYOSHI MORIKAWA
 (51) Int. Cl⁴. A61K9/00, A61K37/00, A61K37/02, A61K37/04, A61K37/24, A61K39/00, A61K45/02, A61K47/00

PURPOSE: The titled composition which is liquid at low temperature and gelatinizes approximately at body temperature, containing a specific amount of a specified polyoxyethylene-polyoxypropylene block polymer type polyether high polymer surface active agent in a mixture solution of an active substance and a carrier.

CONSTITUTION: A sustained release composition comprising a mixture solution of a block polymerization type polyether high polymer surface active agent, having $\geq 9,500$ (especially 12,500) average molecular weight, comprising propylene oxide and ethylene oxide containing $\geq 25\text{wt}\%$ (especially 70wt%) ethylene oxide, as a mixture base for an active substance such as an antitumor physiologically active substance, the active substance, and another carrier. The amount of the block polymerization type polyether high polymer surface active agent blended is 20~50wt%, preferably 25~35wt%, especially 30wt%. Since blending with the active substance can be carried out at low temperature, the sustained release composition has advantage in the case where a physiologically active substance having unstability to heat, such as interleukin, etc., is used, and the sustained release composition which can provide the physiologically active substance with improved local retention properties and sustained release properties since it locally gelatinizes after inoculation to organisms is obtained.

(54) GELATINOUS DRUG COMPOSITION FOR EXTERNAL USE

- (11) 61-277613 (A) (43) 8.12.1986 (19) JP
 (21) Appl. No. 60-119254 (22) 31.5.1985
 (71) NITTO ELECTRIC IND CO LTD (72) SUSUMU SATO(3)
 (51) Int. Cl⁴. A61K9/70

PURPOSE: The titled composition having improved shape retention and endermic absorption of drug, obtained by blending a gelatinous base composition consisting of a polyvinyl alcohol, a dispersion medium, a sulfoxide compound as an endermic absorption promoter and a specific liquid substance with an endermic absorption drug.

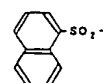
CONSTITUTION: A gelatinous base composition containing (ii) a sulfoxide compound as a dispersion medium and an endermic absorption promoter and (iii) one or more specific liquid substances selected from 8~22C saturated or unsaturated monohydric alcohol, 5~30C hydrocarbon which may contain a halogen, 11~26C fatty carboxylic acid alcohol ester, 10~14C mono~diether, and 11~15C ketone, etc., in (i) a gel skeleton consisting of a polyvinyl alcohol or a modified polyvinyl alcohol is blended with an endermic absorption drug, to give the titled composition having improved diffusion and migration of drug, releasability of the drug to the skin to be applied, and absorption properties of the drug form the skin, capable of providing various properties by regulating the amounts of the above-mentioned components.

(54) ANTIPLASMIN AGENT

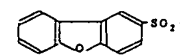
- (11) 61-277614 (A) (43) 8.12.1986 (19) JP
 (21) Appl. No. 60-119670 (22) 4.6.1985
 (71) SHOWA DENKO K.K.(1) (72) AKIYOSHI OKAMOTO(6)
 (51) Int. Cl⁴. A61K31/22, A61K31/34, A61K37/64, G01N33/86//C07C103/84, C07C143/78, C07D307/91, C12N9/99

PURPOSE: An antiplasmin agent useful as a hemostatic, etc., having medicinal effects different from those of existing drugs of the same kind, such as suppression of fibrinogen decomposition, etc., comprising a specific lysine ester derivative or its pharmaceutically acceptable salt.

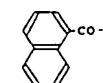
CONSTITUTION: An antiplasmin agent comprising a compound shown by the formula X-Lys-O-R¹ (X is phenylcarbonyl, phenylsulfonyl or phenyl-ethylcarbonyl which may contain methyl group at the para-position, group shown by the formula I~formula V, H-Ile-Tys, or H-Ile-Phe; R¹ is 1~7C alkyl, phenyl which may contain alkyl, group shown by the formula VI, para-benzoylphenyl, para-N, N-dimethylaminophenylethyl, or cyclohexyl which may contain 1~2C alkyl; R² is 2~3C alkylene) or its pharmaceutically acceptable salt, having affinity for the active center of plasmin, acting on the center to effectively suppress the action of plasmin.



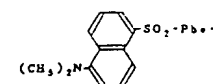
I



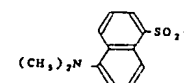
II



III



IV



V



VI

⑫ 公開特許公報(A)

昭61-277612

⑤ Int.Cl.⁴

A 61 K 9/00
37/00
37/02
37/04
37/24
39/00
45/02
47/00

識別記号

庁内整理番号

6742-4C
7138-4C
7138-4C
7138-4C
7138-4C

⑬ 公開 昭和61年(1986)12月8日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全7頁)

⑭ 発明の名称 接種用徐放性組成物

⑮ 特 願 昭60-118463

⑯ 出 願 昭60(1985)5月31日

⑰ 発 明 者 森 川 清 志 札幌市東区北14-東2

⑱ 出 願 人 森 川 清 志 札幌市東区北14-東2

⑲ 代 理 人 弁理士 川口 義雄

明 細 書

1. 発明の名称

接種用徐放性組成物

2. 特許請求の範囲

(1) 平均分子量9,500以上でエチレンオキサイドを25重量%以上含むプロピレンオキサイドとエチレンオキサイドとのブロック重合型ポリエーテル系高分子界面活性剤と活性物質と担体との混合物溶液であって、該ブロック重合型ポリエーテル系高分子界面活性剤を該混合物溶液中20~50重量%含有することから成る、0~4℃の低温で液体であり且つ体温付近の温度でゲル化する接種用徐放性組成物。

(2) 該ブロック重合型ポリエーテル系高分子界面活性剤を25~35重量%含有する特許請求の範囲第1項に記載の組成物。

(3) 該ブロック重合型ポリエーテル系高分子

界面活性剤を30重量%含有する特許請求の範囲第1項に記載の組成物。

(4) 該ブロック重合型ポリエーテル系高分子界面活性剤が平均分子量12,500でエチレンオキサイドを70重量%含む物質である特許請求の範囲第1項乃至第3項に記載の組成物。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、平均分子量9,500以上でエチレンオキサイドを25重量%以上含むプロピレンオキサイドとエチレンオキサイドとのブロック重合型ポリエーテル系高分子界面活性剤を含有する接種用徐放性組成物に関するものである。

従来、種々の抗腫瘍生理活性物質、免疫生理活性物質、単クローン抗体、ホルモン、酵素などの生理活性物質及びその他の活性物質を生体内に投与した際には、これらの物質が体液中のプロテアーゼ及び種々のインヒビター等により短時間で分

解されあるいは急速に阻害され、これら物質の活性が長時間継続的に発揮し得ないという問題点があった。

又、インターロイキンなどの局所ホルモン様活性物質が生体内でその効果を発揮するためには、その活性物質が目的とする反応局所に滞留し、その活性が該局所に於いて長時間持続することが必要とされるが、単にこれらの物質を局所投与しただけでは投与後短時間のうちに全身を循環し体外排泄ないしは不活化されてしまうという欠点があった。そのため従来は、これらの活性を生体内で有効に発揮させるために、これらの活性物質を持続的ないし頻回に、又は大量に投与する必要があった。しかしながら、これは治療上煩雑であり不経済であるばかりでなく、大量投与による副作用という解決すべき問題点を含んでおり、医薬品として目的とする効果が得られ難いことが多かった。

ものにするという目的が達成されることを見出した。

米国ワイアンドotte社により開発されたエチレンオキシドとプロピレンオキシドのブロック重合型ポリエーテル系高分子界面活性剤のうち、プルロニック類として広く知られている物質は市場で入手可能である。酸・アルカリ、過酸化物、金属イオン等に対して安定であり、それらの物質が生体内に於いて、低刺激性、低毒性及び低催奇形性に加えて水溶性であることは公知の事実である。例えば、林莊一及び永井真一著「ポリエーテル型高分子界面活性剤の生理作用と安全性について」、フレグランス・ジャーナルNo.7, P82-P87, (1974), およびイルヴィング・R. シモルカ(IRVING R. SCHMOLKA), ビー・エー・エス・エフ・ワイアンドotte社, 著「ブロックポリマー界面活性剤概論」ジャーナル・オブ・ザ・アメリカン・オ

そこで、本発明者は上記の種々の欠点を克服すべく種々研究した結果、平均分子量9,500以上でエチレンオキシドを25重量%以上含むポリオキシエチレン・ポリオキシプロピレンブロック重合型ポリエーテル系高分子界面活性剤、例えばプルロニック(Pluronic)F-127(平均分子量12,500, エチレンオキシド70重量%含有、融点56℃、77℃での比重は1.05、以下、PLF-127と記す)、PLF108(平均分子量15,500, エチレンオキシド80重量%含有)及びPLF-98(平均分子量13,500, エチレンオキシド80重量%含有)などを上記活性物質の混合基剤として、それらを他の担体を含む混合物溶液に対して20重量%~50重量%の割合で含有させることにより、生体内で活性物質に徐放性を持たせその生理活性を持続させることができ、その活性作用を確実な

イル・ケミスト・ソサイアティ, Vol.54, P110-P116(1977)を参照のこと。その中でも平均分子量9,500以上でエチレンオキシドを25重量%以上含むものは毒性が特に低く、少なくとも0℃付近の低温では液状であるにもかかわらず、20重量%以上90重量%までの濃度で水溶液にした場合25℃以上ではゲル化するという特性を持つ。かかる特性を利用してPLF-127を人工皮膚として用いた例も周知である(イルヴィング・R. シモルカ(IRVING R. SCHMOLKA), ビー・エー・エス・エフ・ワイアンドotte社, ジェイ・バイロメド・マテ・レス(J. BIOMED-MATER. RES), Vol.6, p571~p582, (1972))。また、それらは生体内に接種された後、徐々に溶解し、さらにその溶解したものは腎臓より排泄される特性をもつ(モアー(Moore), ジェイ・サージ・レス(J. Surg. Res.), Vol.8, P563(1968)参照)ため、治療後にそれらの

物質を再抽出する必要がないという利点を有する。

本発明はかかる特性を持つPLF-127などを徐放性混合基材として、20重量%～50重量%の割合で含有する該接種用徐放性組成物を提供するものである。これにより、活性物質との混合を0℃付近の低温に於いて液状で行なうことが可能であり、熱に不安定なインターロイキンなどの生理活性物質を使用する際に特に本発明は有利である。更に本発明は、生体に該混合組成物を接種した後、該混合組成物がその局所でゲル化することにより、活性物質に優れた局所滞留性と徐放性を付与することができるという利点を有する。

そればかりではなく、本発明においては、PLF-127などに活性物質を単に混合するだけで良く、互いに化学的に結合させる必要がないため、調製に際してそれらの活性を損なう恐れがない。

かかる徐放性基剤と混合され得る活性物質とし

などの細胞増殖因子(NGF)、ウロキナーゼ(UK)、リゾチーム、アスパラギナーゼ、ヒアルロニダーゼ及びコラゲナーゼなどの酵素等の生理活性物質、並びにレンチナン、PS-K、MER、N-CWS、BCG-CWS及びレバミゾールなどの免疫賦活剤、プレオマイシン、5-FU、サイトシンアラビノサイト(Ara-C)、シスプラチナン、マイトマイシンC及びアドレアマイシンなどの制癌剤などその他の活性物質が挙げられる。

本発明の混合物は活性物質の種類により、局所的あるいは全身的に投与され得る。局所的投与は癌組織周辺ないし領域リンパ節付近に、又全身的投与は筋肉内、皮下に接種によって行なわれる。接種量は活性物質の既知の投与量に比例するが、本発明の徐放性基剤と混合された活性物質は生体内での活性持続効果が著しく高いので、1回の投

てはヒト免疫担当細胞間の仲介活性物質、抗腫瘍活性物質、単クローン抗体、免疫賦活剤、制癌剤、ホルモン、酵素などの活性物質、例えばインターロイキン1(IL-1)、インターロイキン2(IL-2)、インターロイキン3(IL-3)、インターフェロン α (IFN- α)、インターフェロン β (IFN- β)、インターフェロン γ (IFN- γ)、マクロファージ活性化因子(MAF)及び顆粒球活性化因子(NAF)などのヒト由来のリンホカイン、サイモシンFr5、サイモシン α 、 β 及びサイミュリンなどの胸腺因子並びにトランスファー因子、TNF、KBS及びOH-1などの癌細胞壊死因子、絨毛性性腺刺激ホルモン(HCG)及び成長ホルモン(HGH)などのホルモン、上皮細胞増殖因子(EGF)、血小板由来増殖因子(PDGF)、神経細胞増殖因子(NGF)及びコロニー形成刺激因子(CSF)

と量を減らすことができ、又、投与間隔も従来に較べて長くすることが可能である。

本発明に用いられるプロピレンオキシドとエチレンオキシドのブロック重合型ポリエーテル系高分子界面活性剤の中でも、その低毒性、ゲル特性に鑑みPLF-127が特に好ましい。また、混合組成物中の該高分子界面活性剤の濃度は、20重量%以上でないとゲル化しないこと及び50重量%以上であると混合調製に時間がかかりすぎるなどの実際上の理由により、20重量%～50重量%であり、好ましくは25重量%～35重量%、更に好ましくは30重量%である。

又、本発明に於ける担体は、通常の薬剤に用いられるものであれば、何でも使用し得、例えば蒸留水、生理的食塩水及び種々の緩衝液などが適当である。以下、実施例により本発明をさらに詳細に説明する。

実施例 1

前述の PLF-127、PLF-108、及び PLF-98 の徐放性効果をそれらと混合したタンパク質の試験管内に於ける遊出速度から検討した。

即ち、 ^{125}I (放射性同位元素ヨード) 標識アルブミン (^{125}I -HSA、ミドリ十字社製、医用キット) 100,000 c.p.m. をそれぞれ含む上記ブルロニック類の各濃度水溶液を 0℃ に於いて各 2.0 ml、前述した引用文献中に記載されている方法に従って混合調製した。調製した各濃度の水溶液 0.5 ml をそれぞれプラスチック尖端試験管底にとり 37℃ でゲル化させた後、同じく 37℃ に加温した 0.5% 人血清添加生理的食塩水 2.0 ml をその上に重層し、37℃・5% インキュベーター内で一定期間静置した。上清の生理的食塩水溶液中に遊出してくる ^{125}I -HSA の

に、比較例として行なった 15 重量% (PLF-127) の場合は 1 時間以内に殆んど全ての活性量が遊出してしまった。

実施例 2

PLF-127 混合 IL-2 の試験管内徐放効果

PLF-127 粉末を 0℃ にて生理的食塩水に静かに攪拌しながら溶解し重量百分比で 33 重量% の液状 PLF-127 を調製した。次に、同じく 0℃ のヒトリコンビナントインターロイキン 2 (rIL-2) (塩野義製薬、S-6820) 水溶液と混和して、最終的に rIL-2 を 2×10^3 u/ml の濃度で含む最終 PLF-127 濃度がそれぞれ 20 重量%、25 重量%、30 重量% の rIL-2・PLF-127 混合組成物を調製した。各濃度の混合組成物のそれぞれ 0.5 ml を 15 ml 試験管底に付着させた後 37℃ でゲル化させた。これに 37℃ に加温した 10% FCS

放射活性をガンマカウンター (アロカ社製 ARC500) を用いて経時的に測定し、最初に加えた量に対する百分率で表記した (第 1 図参照)。

その結果を 50% 放射活性量の遊出時間で表わすと下記のようにになった。

表 1

50% 遊出放射活性量 (h)		各組成物水溶液中の濃度 (重量%)						
		15	20	25	28	30	32.5	35
放出時間 (h)	PLF-98	-	-	9	20	14	19	34
	PLF-108	-	-	15	23	13	30	-
	PLF-127	<1	4.8	11	11.5	20	30	-

以上の結果から、これらブルロニック類が組成物中に混合されることにより該組成物中のタンパク質に徐放性が付与されることが判明した。因み

添加 RPMI-1640 培地 2 ml を加え、37℃・5% CO_2 インキュベーター内に静置して、経時的に 1, 5, 3, 6, 12, 24 及び 48 時間後に上清を採取し、培地中に放出される rIL-2 活性を測定した。rIL-2 活性の測定には IL-2 依存性細胞である CTL 細胞を用いた。すなわち、96 穴のマイクロプレートの各ウエルに 10^5 個の CTL 細胞を播種し、これに最終希釈倍数が 3~243 倍となるように 10% FCS 添加 RPMI-1640 培地で希釈した各検体の上清液を加えて、37℃・5% CO_2 インキュベーター内で 24 時間培養後、ハーベットの 8 時間前にトリチウムサイミジン (^3H -thymidine, Amersham 社製 TRK120) $1 \mu\text{Ci}$ を添加し CTL 細胞にとりこまれた ^3H -thymidine の放射活性を液体シンチレーションカウンター (アロカ社製 LSC903) で測定した。その結果、20 重量% お

よび25重量%PLF-127からのrIL-2の放出はその50%活性放出時間として約3時間であったが、30重量%PLF-127からのそれは12~24時間で著しい徐放効果を発揮することが認められた(第2図参照)。

実施例3

生体内(in vivo)徐放効果試験

生理的食塩水中で最終濃度30重量%PLF-127に混合した放射性同位元素 ^{99m}Tc (医薬用テクネシウム、第一ラジオアイソトープ社製)が接種局所にどのように滞留するかを検討した。すなわち、 ^{99m}Tc ・PLF-127混合物と生理食塩水中に ^{99m}Tc (生食 ^{99m}Tc)を溶解しただけのものの両者をそれぞれ別々にラットの背部皮下(100 μCi , 0.5 ml)ないし足背部(40 μCi , 0.2 ml)に接種し、その局所に於ける放射活性の減衰をシンチカメラ(オハイオ・

の局所滞留性(徐放効果)をガンマカウンタ(アロカ社製ARC500)を用いて経時的に測定した。その結果、PLF-127との混合物に於いては ^{125}I -HSAの半減期は約2.3時間であり、生理的食塩水溶液の半減期の約0.86時間に比べて約2.7倍の間、局所に滞留したことが判明した(第3図参照)。

実施例5

PLF-127・rIL-2混合組成物の生体内(in vivo)抗腫瘍効果

PLF-127粉末を0℃の低温で生理的食塩水溶液とし、これにrIL-2を溶解し、最終濃度PLF-127が30重量%、rIL-2が $1.2 \times 10^5 \text{ U/ml}$ になるように調製した。次に、これのWKAラットの同系線維肉腫(KMT-17細胞を 10^5 個皮下に移植し腫瘍化させたもの)に対する治療効果を検討した。KMT-

ニュウクレア(株)製シグマ410S)にて測定した。その結果 ^{99m}Tc ・PLF-127混合物接種部位の放射活性の半減時間は背部皮下で約81分、足背部で約127分であったのに対し、生食 ^{99m}Tc 接種部位のそれは、それぞれ平均約25分および約35分であり、PLF-127と混合することで ^{99m}Tc 接種局所に於ける滞留時間(徐放効果)が3~4倍延長することが観察された。

実施例4

^{125}I 標識人血清アルブミンの局所滞留性試験

実施例1で用いたのと同じ ^{125}I (放射性同位元素ヨード)標識ヒト血清アルブミン(^{125}I -HSA)を生理的食塩水中で最終濃度30重量%PLF-127と混合し、あるいはただの ^{125}I -HSA生理的食塩水溶液としてラットの足趾(foot pad)に接種(115,000c.p.m., 0.2 ml)し、そ

17細胞移植翌日から比較例としてrIL-2($0.6 \times 10^5 \text{ U}$, 0.5 ml)を単独、あるいはPLF-127・rIL-2混合組成物溶液0.5 ml として、腫瘍局所近傍皮下に計10回隔日投与(担癌1~19日目)した。生存日数の延長(Percent increase of life span: %ILS)はrIL-2単独投与群で、38.2%であったのに対して、PLF-127・rIL-2混合組成物溶液投与群では56.0%と有意の延長($P < 0.05$)が認められ、PLF-127を混合基剤として用いたことによる徐放効果が確められた。又、PLF-127単独投与群の%ILSは14.1%で延命効果はほとんど認められなかった。尚、%ILSは下記の式:

$$\frac{\text{試験群の平均生存日数} - \text{対照群の平均生存日数}}{\text{対照群の平均生存日数}} \times 100$$

より求めた。

実施例 6

実施例 5 で治療処置した各ラット群それぞれの所属リンパ節細胞の抗腫瘍活性を検討した。Winn assayに従って、前記各ラット群の所属リンパ節を腫瘍移植後 25 日目に採取し、MEM 培地を用いて該リンパ節細胞浮遊液 (10^8 細胞/ml) を調製し、その 0.1 ml を KMT-17 細胞の MEM 培地浮遊液 (10^6 細胞/ml) 0.1 ml と混合した。その後それぞれの該細胞混合浮遊液 0.2 ml を同系 WKA ラットの皮下に接種した。それぞれの抗腫瘍活性は接種後 11 日目に於ける腫瘍の重量を KMT-17 細胞単独投与したもののそれと比較して、下記に示す式から求めた % 抑制率として表わした。

その結果、実施例 5 に於ける治療効果と一致した傾向が見られた。即ち、実施例 5 の PLF-127・rIL-2 混合組成物溶液投与群からの

所属リンパ節細胞が 90 % の高い抑制率を示したのに対し、rIL-2 単独投与群からのそれは 12 %、PLF-127 単独投与群からのそれは 15 %、未治療群からのそれは 10 % という低い値であった。

% 抑制率の算出式：

% 抑制率 =

$$\left(1 - \frac{\text{リンパ節細胞混合接種群の11日目の腫瘍重量}}{\text{KMT-17細胞単独接種群の11日目の腫瘍重量}} \right) \times 100$$

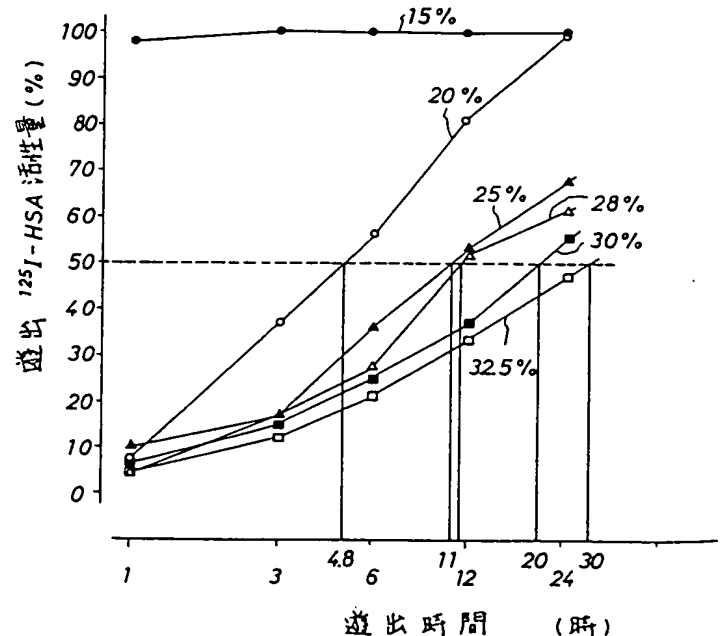
4. 図面の簡単な説明

第 1 図は徐放性効果を ^{125}I -HSA の遊出速度で検討したもののうちから、代表例として PLF-127 についてグラフで示したものである。

第 2 図は同じく PLF-127 の徐放性効果に関して、rIL-2 を活性物質として用いた実験結果を示したものである。

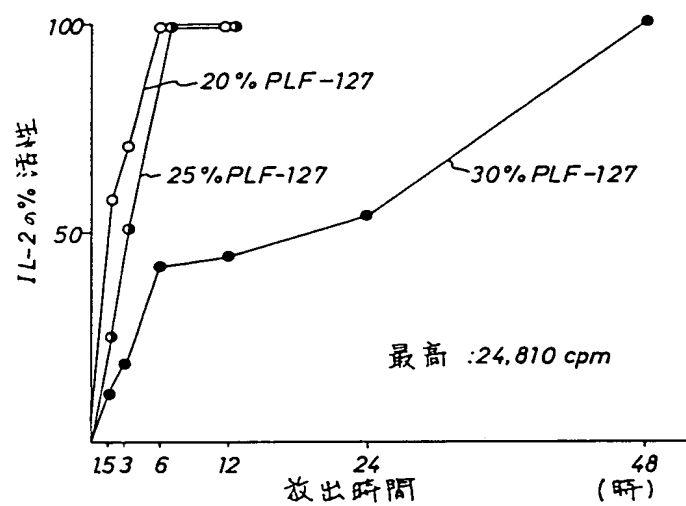
第 3 図は ^{125}I 標識人血清アルブミンの局所滞留性に関してラットを用いて行なった実験結果を示している。

第 1 図



出願人 森川 清志
代理人 芥原上川 口 義 雄

第 2 図



第 3 図

